

# Vascular endothelial cells in immune reactions

Citation for published version (APA):

Groenewegen, G. (1985). *Vascular endothelial cells in immune reactions*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19850621gg>

**Document status and date:**

Published: 01/01/1985

**DOI:**

[10.26481/dis.19850621gg](https://doi.org/10.26481/dis.19850621gg)

**Document Version:**

Publisher's PDF, also known as Version of record

**Please check the document version of this publication:**

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

**General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

**Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## CHAPTER 12A

### Summary

This thesis presents the results of a study on the role and function of vascular endothelial cells in immune responses.

In section 'Introduction' an overview of immune reactions involved in allograft rejection is presented. The succeeding events in immune processes can be described as follows: Antigen is taken up by antigen presenting cells, processed in these cells, and expressed on the cell membrane in association with MHC-class II antigens. Helper T lymphocytes recognize the complex of antigen and MHC-class II antigens and are activated by the APC-released Il-1. T helper cells release lymphokines, among them Il-2, after activation. Precursors of cytotoxic T lymphocytes recognize antigen in association with MHC-class I antigen and are activated by Il-1. Upon activation, the CTL acquire receptors for the T cell growth factor Il-2 and start to proliferate to achieve expansion of the effector cell population. A different mode of T cell activation occurs in allograft reactions. In an allograft specialized cells from the donor present their own alloantigens to T lymphocytes of the recipient, which are thereby activated.

In section 'Introduction to the experiments', it is indicated in which events the putative role and function of endothelial cells have been studied.

Chapter 3 describes the technique of culture of endothelial cells *in vitro*. The target determinants recognized by CTL, generated in MLC, on arterial and venous endothelial cells and lymphoblasts are compared in cold target inhibition experiments. It is concluded that these CTL recognize similar determinants on AEC and lymphoblasts, and different determinants on VEC and lymphoblasts.

Chapter 4 describes a procedure for cloning of canine CTL, generated in mixed lymphocyte cultures. The patterns of cytolysis of lymphoblasts, monocytes and AEC and VEC have been determined. A limited number of patterns of lysis of one or more than one of these four different targets has been observed. These data suggest the existence of a number of alloantigen systems with a wide or with a limited distribution over the used target cells.

Chapter 5 describes the effects of lymphokines on the morphology and motility of endothelial cells. In a species specific action lymphokines other than Interleukin 2 and interferon gamma affect the morphology of canine and human endothelial cells and increase their motility.

Chapter 6 describes the stimulation of lymphocytes by allogeneic endothelial cells. It is observed that allogeneic endothelial cells induce proliferation of lymphocytes. AEC generate CTL against AEC and lymphoblasts, while VEC generate CTL against AEC, VEC and lymphoblasts. It is concluded, in relation to the finding in chapter 3, that different determinants are recognized on AEC and VEC, in both the generation phase and in the effector phase of cell-mediated cytotoxicity.

Chapter 7 describes a method to deplete suspensions of canine peripheral blood leukocytes of antigen presenting cells, and thereby isolate purified populations of lymphocytes. This method is used to study the capacity of endothelial cells to present alloantigens to unprimed syngeneic lymphocytes in support of proliferation of these lymphocytes and of generation of CTL. It appears that both AEC and VEC can present alloantigens in this system, resulting in proliferation and differentiation of lymphocytes in MLC. Endothelial cells of the recipient would therefore be able to present donor alloantigens shed from an allograft to recipient lymphocytes.

Chapter 8 describes experiments to study the capacity of endothelial cells to stimulate allogeneic lymphocytes without the need for additional antigen presenting cells. The experiments indicate that venous endothelial cells are capable of self-alloantigen presentation. It is concluded that donor endothelial cells can be important in the initial phase of rejection of vascularized allografts because of their capacity to present donor self-alloantigens to recipient lymphocytes.

Chapter 9 and 10 describe the expression of MHC-class II antigens by endothelial cells. Lymphokines were observed to induce the expression of these antigens in vitro. The secretion of these lymphokines is inhibited by cyclosporin A (chapter 9). The expression of MHC-class II antigens on endothelial cells in vivo is absent during treatment of dogs with cyclosporin A in vivo. It is concluded in chapter 10 that the antigen expression by endothelial cells is not a constitutive property of these cells, but is dependent on lymphokines.

In section 'General discussion of the experiments' an overview is presented of the roles and functions of endothelial cells in immune reactions that have been studied. MHC-class II antigen expression in vitro and in vivo, both dependent on lymphokines, allow a regulatory function in immunological processes. Endothelial cells stimulate the generation of CTL. CTL recognize different determinants on AEC and VEC, demonstrated at the clonal level of CTL. Endothelial cells are lysed by CTL and affected by lymphokines. In conclusion: endothelial cells have essential functions in immunological reactions leading to allograft rejection.

### Samenvatting

In dit proefschrift worden de resultaten gepresenteerd van een onderzoek naar de rol en functie van vasculaire endotheelcellen in immunologische reacties.

In 'Introduction' wordt een overzicht gegeven van immunologische reacties die betrokken zijn bij afstoting van getransplanteerde organen. De opeenvolgende gebeurtenissen daarbij worden beschreven: antigeen wordt opgenomen door een antigeen presenterende cel, in deze cel verwerkt en daarna op de celmembraan gepresenteerd in samenhang met MHC-klasse II antigenen. T-lymfocyten met hulp-functie herkennen dit complex van antigeen en MHC-class II antigeen en worden geactiveerd door Il-1 wat vrijgemaakt wordt door de antigeen presenterende cellen. Hulp T-cellen scheiden na activatie lymfokinen, waaronder Il-2, uit. Voorlopers van cytotoxische T-lymfocyten herkennen het antigeen in samenhang met MHC-klasse I antigenen en worden geactiveerd door Il-1. Tijdens activatie krijgen CTL receptoren voor de T-cel groeifactor Il-2 en door proliferatie wordt de effector cel populatie vergroot. Tijdens reacties tegen een transplantaat worden T lymfocyten op een andere wijze geactiveerd: in een transplantaat presenteren gespecialiseerde cellen hun eigen lichaamsvreemde antigeen aan T lymfocyten van de transplantaat-ontvanger, waardoor de T lymfocyten geactiveerd worden.

In 'Introduction to the experiments' is aangegeven in welke gebeurtenissen de mogelijke rol en functie van endotheelcellen is bestudeerd.

'Chapter 3' beschrijft de techniek van het kweken van endotheelcellen in vitro. In 'cold target inhibition' experimenten worden de determinanten die in MLC gegenereerde CTL herkennen op arteriële en veneuze endotheelcellen en lymfoblasten vergeleken. De uitkomsten van de experimenten geven aan dat CTL gelijke determinanten herkennen op AEC en lymfoblasten en verschillende determinanten op VEC en lymfoblasten.

'Chapter 4' beschrijft een methode voor het kloneren van CTL uit MLC van de hond. De patronen van cytolysis van lymfoblasten, monocyt, AEC en VEC werden bepaald. Een beperkt aantal patronen van lysis van een of meer verschillende cellen werd waargenomen. De uitkomsten suggereren het bestaan van een aantal systemen van lichaamsvreemde antigenen met een beperkte of met een ruime verspreiding over de gebruikte cellen.

'Chapter 5' beschrijft het effect van lymfokinen op de vorm en beweeglijkheid van endotheelcellen. Lymfokinen anders dan Il-2 en gamma interferon veroorzaken op een species-specifieke wijze verandering in de vorm van de endotheelcellen van mens en hond en een verhoogde beweeglijkheid van deze cellen.

'Chapter 6' beschrijft de stimulatie van lymfocyten door lichaamsvreemde endotheelcellen: deze endotheelcellen veroorzaken proliferatie van lymfocyten. AEC ge-

nereerden CTL tegen AEC en lymfoblasten, terwijl VEC CTL genereerden tegen AEC, VEC en lymfoblasten.

'Chapter 7' beschrijft een methode om antigeen presenterende cellen te verwijderen uit een suspensie van witte bloedcellen van de hond ter bereiding van gezuiverde lymfocyten. Met behulp van deze methode kon bestudeerd worden of endotheelcellen in staat zijn lichaamsvreemd antigeen te presenteren aan lymfocyten ter ondersteuning van proliferatie en differentiatie tot CTL. Het bleek dat zowel AEC als VEC lichaamsvreemd antigeen kunnen presenteren aan gezuiverde lymfocyten, die daardoor kunnen prolifereren en differentiëren in MLC. Endotheelcellen van de ontvanger zouden daarmee in staat zijn donor antigenen, losgelaten uit een transplantaat, te presenteren aan lymfocyten van de ontvanger van het transplantaat.

'Chapter 8' beschrijft een studie naar de mogelijkheid van endotheelcellen tot lymfocytenstimulatie, onafhankelijk van andere antigeen presenterende cellen. De experimenten laten zien dat donor endotheelcellen in staat zijn tot presentatie van donoreigen lichaamsvreemde antigenen aan lymfocyten van een ontvanger van een transplantaat. Dit maakt dat endotheelcellen een belangrijke rol kunnen spelen in de initiële fase van de afstoting van gevasculariseerde transplantaten.

'Chapter 9 en 10' beschrijven de expressie van MHC-klasse II antigenen op endotheelcellen. Lymfokinen induceren de antigeenexpressie in vitro, waarbij blijkt dat cyclosporine A de produktie van de relevante lymfokinen remt (chapter 9). De expressie van MHC-klasse II antigenen op endotheel in vivo is afwezig tijdens behandeling van honden met CyA. Daarom kan gesteld worden dat de expressie geen onveranderlijke eigenschap is van endotheel, maar afhankelijk is van lymfokinen.

In 'General discussion of the experiments' wordt een overzicht gegeven van de bestudeerde rollen en functies van endotheel in immunologische reacties. Zowel in vivo als in vitro is endotheel in staat tot expressie van MHC-klasse II antigenen onder invloed van lymfokinen. Hierdoor kunnen endotheelcellen een rol hebben in de regulatie van immunologische processen. Endotheelcellen kunnen CTL genereren door lymfocyten stimulatie. CTL herkennen verschillende antigenen op AEC en VEC, wat op klonaal niveau van de CTL zichtbaar is. Na herkenning worden endotheelcellen gelyseerd door CTL. Endotheelcellen worden beïnvloed door lymfokinen. Uit bovenstaande volgt dat endotheelcellen essentiële functies hebben in de immunologische reacties die leiden tot afstoting van transplantaten.